慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	Basic Studies on the Clinical Applications of Platelet-Rich Plasma.
Sub Title	多血小板血漿の臨床応用に関する基礎的研究
Author	矢澤, 真樹
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.1 (2004. 3) ,p.10-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20040302-0010

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Basic Studies on the Clinical Applications of Platelet-Rich Plasma.

（多血小板血漿の臨床応用に関する基礎的研究）

矢　澤　　真　樹

内容の要旨

1．緒言

血小板には止血作用だけでなくPDGF，TGF-β1，IGF-1など血管や組織の修復機転に関与する様々な成長因子の存在が確認されている。これら天然型の成長因子は患者自身の血液より収集し使用することができるので抗原性がなく、感染症などの危険が少ないという利点から、多血小板血漿（PRP）として創傷治癒、骨形成を促進させる試みが注目されている。本研究は、PRPに含まれる成長因子の濃度を測定して、より高濃度の成長因子を含むPRPの作成法を開発し、PRPの担体としてフィブリン糊を用いた場合のDDS（Drug Delivery System）としての評価を行ない、その臨床効果および臨床応用への可能性を検討した。

2．材料・方法

実験１　PRP，血小板沈殿物再浮遊液の作成と含有成長因子濃度の検討

まずヒトの全血を80G、15分間遠心分離して血球成分を除いた血漿成分（PRP）を作成した。次にこのPRPを1000G、７分間遠心分離して得られた血小板沈殿物をその上清（PPP：Platelet Poor Plasma）１mlで再浮遊し、血小板沈殿物再浮遊液としてPDGF、TGF-β1濃度を測定した。

実験２　血小板沈殿物再浮遊液のDDSの検討

ウサギの全血から作成した血小板沈殿物をフィブリン糊で再浮遊し、フィブリン糊シートを作成した。これを同じ兎の耳介皮下に埋入し、埋入前、埋入後、１，３，５，７日目の検体をH.E.染色および抗PDGF抗体で免疫染色した。

3．結果

実験１：PDGF濃度、TGF-β1濃度は全血に比べPRPでは3.5～４倍、血小板沈殿物再浮遊液では12～19倍に濃縮されていた。

実験２：H.E.染色では埋入直後より７日に渡って次第にフィブリンシートが薄く、内部が粗になる様子が観察された。免疫染色では埋入後７日まで、残存するシート内に抗PDGF抗体による顆粒状の染色像が観察された。

4．考察

血小板沈殿物の再浮遊を利用した多血小板血漿作成法は、通常の方法より高濃度の成長因子を含めることができるだけでなく、収集した成長因子に無駄が少なく、再浮遊に各種担体を付加すれば効果的なDDSの期待ができる。

本研究の結果で得られた成長因子濃度は、過去の知見で各種成長因子を単独投与した場合に必要とされている濃度には達していないが、複数の成長因子を複合投与した場合、成長因子同志のネットワークにより、単独投与を上回る創傷治癒効果が確認できるとされている。様々な成長因子がある程度自然な比率を保ちながら存在するPRPは、単独の成長因子投与による創傷治癒促進効果より低濃度で良好な効果を発揮することが推察される。PRPの担体としては、フィブリン糊が理想的な代謝吸収動態を示し、経時的なPDGFの含有が確認されたことに加え、血小板沈殿物からの再浮遊にも適当であることから、今後PRPの臨床応用に適当な担体の一つと考えられた。

論文審査の要旨

PDGF、TGF-βなどの成長因子が多く存在する血小板は遠心分離により高濃度で採取され、PRP（Platelet Rich Plasma）として創傷治癒、骨形成の場で臨床利用されている。本論文では、PRPに含まれる成長因子の濃度を測定しながら従来の作成法に工夫を加え、より高濃度の成長因子を含むPRPの作成方法を明らかにした。さらに、このPRPの適応方法について、PRPを含有するフィブリン糊シートをウサギの耳介に埋入後経時的に採取、免疫染色（抗PDGF抗体）することで、PRPのDDS（Drug Delivery System）としてのフィブリン糊を評価した。その結果、PRPはフィブリン糊を担体とした場合１週間程度の徐放性を得られる可能性が推測され、PRPの効果的な臨床応用の可能性を示唆した。

審査では、測定されたPRP中の成長因子濃度について、各成長因子が単独投与された場合に効果を認めるとされる濃度に達していないことについて解釈を求められたが、我々の行っているPRP作成法では血小板pellet再浮遊に用いる液量によって成長因子濃度のコントロールは自在であるとした上で、PRP中には各種成長因子が生理的なバランスの配合で含まれているため、これらの相互・相乗作用が期待できることや、その後の研究のによりPRP作成時にPGE1などの抗血小板剤の併用が成長因子回収効率を高めることを明らかにしているとされた。PRPでは成長因子が高濃度に濃縮できていることは分かるが、同一検体のPRPでPDGFとTGF-β1の濃縮倍率に差が生じていることについて指摘されたが、測定に用いるELISAの選択に検討の余地を残すものの、検体中での血小板の脱顆粒が不十分な恐れについては、現在では血小板を完全に壊してから測定する方法を採用していると回答された。PRPをフィブリン糊と混ぜて使用することでDDSとしての可能性を示しているようだが、フィブリン糊内に存在する血小板あるいは成長因子の活性はどうかという問いに対し、電子顕微鏡写真によりフィブリン糊内では成長因子のほとんどが血小板から脱顆粒により放出されていることを確認しているが、抗PDGF抗体による免疫染色での確認ではフィブリン糊内の成長因子に活性があるかどうかの判断はできないので、今後の詳細な検討が必要とされた。

論文中の検討方法に若干改良の余地が残されているものの、発想と着眼点、およびこの研究から発展し継続している一連の研究（成長因子の濃度測定方法・抗血小板剤の回収効率への寄与、PRPとヒト由来のトロンビン、フィブリンの併用によるboneless bone graftの可能性、創傷治癒促進効果への応用）は、再生医学研究の中でもきわめて安全と思われる手法を用いており、臨床へのフィードバックが容易な研究として有意義と評価された。

論文審査担当者　主査　形成外科学　中島　龍夫
内科学　池田　康夫　　臨床検査医学　渡辺　清明
外科学　河瀬　　斌

学力確認担当者：
審査委員長：池田　康夫

試問日：平成15年12月24日